

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
18. August 2005 (18.08.2005)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2005/075958 A1

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: **G01N 15/14**,
15/12 // B01L 3/00, G01N 27/44

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2005/001085

(22) Internationales Anmeldedatum:
3. Februar 2005 (03.02.2005)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
PCT/EP2004/001031

4. Februar 2004 (04.02.2004) EP

PCT/EP2004/001034

4. Februar 2004 (04.02.2004) EP

10 2004 017 481.4 8. April 2004 (08.04.2004) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US): **EVOTEC TECHNOLOGIES GMBH** [DE/DE];
Merowingerplatz 1a, 40225 Düsseldorf (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **SCHNELLE, Thomas** [DE/DE]; Koppenstrasse 65, 10243 Berlin (DE). **MÜLLER, Torsten** [DE/DE]; Hartriegelstrasse 39, 10439 Berlin (DE).

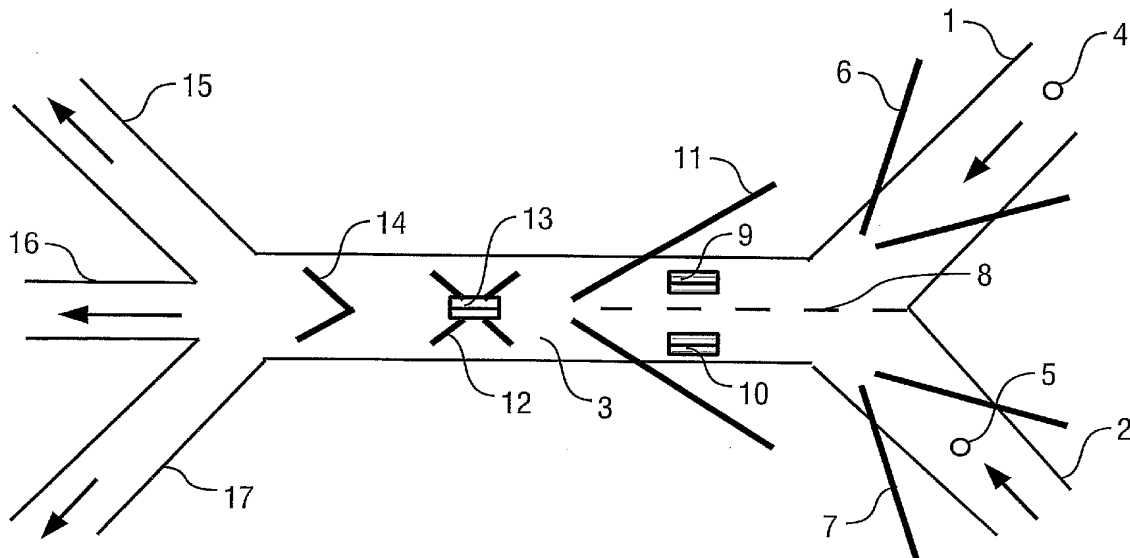
(74) Anwalt: **BEIER, Ralph**; v. Bezold & Sozien, Akademiestrasse 7, 80799 München (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: MICROFLUIDIC SYSTEM AND ASSOCIATED OPERATIONAL METHOD

(54) Bezeichnung: MIKROFLUIDISCHES SYSTEM UND ZUGEHÖRIGES BETRIEBSVERFAHREN



(57) Abstract: The invention relates to a microfluidic system, in particular in a cell sorter, comprising a first carrier power supply (1) which is used to supply a first carrier flow having particles (4) suspended therein, a first carrier power output line (15) which is used to withdraw at least one part of the carrier flow having particles (4) suspended therein, a process chamber (3) which is used to examine, observe, manipulate and/or select the particle (4). The first carrier power supply (1) flows into the process chamber (3) when the first carrier power output line (15) is discharged from the process chamber (3). According to the invention, at least one second carrier power supply (2) flows into the process chamber (3) in order to supply a second carrier flow having particles (5) suspended therein. The invention also relates to a corresponding operational method.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 2005/075958 A1



(84) **Bestimmungsstaaten** (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(57) **Zusammenfassung:** Die Erfindung betrifft ein mikrofluidisches System, insbesondere in einem Zellsortierer, mit einer ersten Trägerstromzuleitung (1) zur Zuführung eines ersten Trägerstroms mit darin suspendierten Partikeln (4), einer ersten Trägerstromausgangsleitung (15) zum Abführen mindestens eines Teils des Trägerstroms mit den darin suspendierten Partikeln (4), einem Prozessraum (3) zur Untersuchung, Beobachtung, Manipulation und/oder Selektion der Partikel (4), wobei die erste Trägerstromzuleitung (1) in den Prozessraum (3) einmündet, während die erste Trägerstromausgangsleitung (15) aus dem Prozessraum (3) ausmündet. Es wird vorgeschlagen, dass in den Prozessraum (3) mindestens eine zweite Trägerstromzuleitung (2) einmündet, um einen zweiten Trägerstrom mit darin suspendierten Partikeln (5) zuzuführen. Weiterhin umfasst die Erfindung ein entsprechendes Betriebsverfahren.

BESCHREIBUNG

5 Mikrofluidisches System und zugehöriges Betriebsverfahren

Die Erfindung betrifft ein mikrofluidisches System, insbesondere für einen Zellsortierer, sowie ein zugehöriges Betriebsverfahren.

10

Aus MÜLLER, T. et al.: "A 3-D microelectrode system for handling and caging single cells and particles", Biosensors and Bioelectronics 14 (1999) 247-256 ist ein Untersuchungsverfahren für biologische Zellen bekannt, bei dem die zu untersuchen-
15 chenden Zellen in einem Trägerstrom eines mikrofluidischen Systems suspendiert sind und dielektrophoretisch manipuliert und sortiert werden. In dem Trägerstrom werden die zu untersuchenden Zellen zunächst durch eine trichterförmige dielektrophoretische Elektrodenanordnung (engl. "Funnel") auf-
20 gereiht und anschließend in einem dielektrophoretischen Käfig (engl. "Cage") festgehalten, um die in dem Käfig befindlichen Zellen im ruhenden Zustand untersuchen zu können, wozu mikroskopische, spektroskopische oder fluoreszenzoptische Messmethoden angewendet werden können. In Abhängigkeit von der Un-
25 tersuchung der in dem dielektrophoretischen Käfig gefangenen Zellen können diese anschließend sortiert werden, wozu der Bediener eine Sortiereinrichtung ansteuert, die aus einer in dem Trägerstrom stromabwärts hinter dem dielektrophoretischen Käfig angeordneten dielektrophoretischen Elektrodenanordnung
30 besteht.

Nachteilig an diesem bekannten mikrofluidischen System ist die Tatsache, dass zur Untersuchung und Sortierung unterschiedlicher Partikeltypen getrennte Untersuchungsreihen er-

forderlich sind, zwischen denen das mikrofluidische System in der Regel sogar gespült werden muss, um Partikelrückstände der vorangegangenen Untersuchungsreihe zu beseitigen.

- 5 Der Erfindung liegt deshalb die Aufgabe zugrunde, eine möglichst einfache Möglichkeit zur Untersuchung verschiedener Partikeltypen in einem mikrofluidischen System zu schaffen.

10 Diese Aufgabe wird durch die Merkmale der nebengeordneten Ansprüche gelöst.

Die Erfindung umfasst die allgemeine technische Lehre, ein mikrofluidisches System mit mindestens zwei Trägerstromzuleitungen zu schaffen, über die Trägerströme mit darin suspendierten Partikeln in einen Prozessraum eingeleitet werden
15 können, in dem die Partikel einer Untersuchung, Beobachtung, Manipulation und/oder Selektion unterzogen werden können. Dies bietet den Vorteil, dass im Rahmen einer einzigen Untersuchung ohne eine zwischenzeitliche Spülung des mikrofluidischen Systems verschiedene Partikeltypen untersucht werden
20 können.

Vorzugsweise enthalten also sämtliche Trägerströme in den einzelnen Trägerstromzuleitungen suspendierte Partikel, die
25 dann in dem Prozessraum untersucht, beobachtet, manipuliert und/oder selektiert werden. Hiervon zu unterscheiden sind mikrofluidische Systeme, bei denen ebenfalls mehrere Trägerströme zugeführt werden, wobei aber nur ein einziger Trägerstrom die interessierenden Partikel (z.B. biologische Zellen)
30 enthält, während die anderen Trägerströme beispielsweise eine Kandidatenverbindung (z.B. einen Zellaktivator) enthalten, der mit den Partikeln reagiert.

In einem bevorzugten Ausführungsbeispiel der Erfindung münden in den Prozessraum zwei Trägerstromzuleitungen, so dass zwei unterschiedliche Trägerströme mit darin suspendierten unterschiedlichen Partikeln in den Prozessraum eingeleitet werden
5 können.

Die Erfindung ist jedoch hinsichtlich der Anzahl der Trägerstromzuleitungen nicht auf zwei Trägerstromzuleitungen beschränkt. Vielmehr ist auch eine größere Anzahl von Trägerstromzuleitungen möglich, falls eine größere Zahl von Partikeltypen im Rahmen einer einzigen Untersuchungsreihe untersucht werden soll.
10

Die einzelnen Trägerstromzuleitungen können bei dem erfindungsgemäßen mikrofluidischen System beide zu der Trägerstromausgangsleitung angewinkelt sein, wobei die einzelnen Trägerstromzuleitungen denselben Einmündungswinkel relativ zu der Trägerstromausgangsleitung aufweisen können.
15

Es besteht jedoch alternativ die Möglichkeit, dass die Trägerstromausgangsleitung oder der kanalförmige Prozessraum eine Verlängerung einer der Trägerstromzuleitungen bildet, so dass die andere Trägerstromzuleitung in einen durchgehenden Kanal einmünden.
20

Der Einmündungswinkel der Trägerstromzuleitungen kann hierbei grundsätzlich jeden Wert größer als 0° und kleiner als 180° aufweisen, wobei beliebige Zwischenwerte möglich sind. Vorzugsweise münden die Trägerstromzuleitungen jedoch spitzwinklig in den Prozessraum bzw. in die Trägerstromausgangsleitung
30 ein, also mit einem Einmündungswinkel größer als 0° und kleiner als 90° , 60° , 50° , 40° , 30° oder sogar kleiner als 20° .

Weiterhin münden die einzelnen Trägerstromzuleitungen vorzugsweise an derselben Stelle in den Prozessraum. Dies bedeutet, dass die Mündungen der einzelnen Trägerstromzuleitungen in Strömungsrichtung nicht versetzt sind.

5

Es besteht jedoch alternativ auch die Möglichkeit, dass die einzelnen Trägerstromzuleitungen in Strömungsrichtung hintereinander in den Prozessraum einmünden, so dass die Mündungen der einzelnen Trägerstromzuleitungen in Strömungsrichtung versetzt angeordnet sind.

10

Der Prozessraum muss jedoch im Rahmen der Erfindung nicht notwendigerweise kanalförmig sein. Es ist beispielsweise auch möglich, dass die Trägerstromzuleitungen und/oder die Trägerstromausgangsleitung bei dem erfindungsgemäßen mikrofluidischen System sternförmig in den Prozessraum mündet.

15

Vorzugsweise ist zur Untersuchung der in den einzelnen Trägerströmen suspendierten Partikel jeweils eine Messstation vorgesehen, wobei die einzelnen Messstationen in den getrennten Trägerstromzuleitungen angeordnet sein können. Vorzugsweise sind die einzelnen Messstationen für die verschiedenen Partikel jedoch in dem gemeinsamen Prozessraum angeordnet, wobei eine getrennte Untersuchung der einzelnen Partikel dadurch ermöglicht wird, dass die einzelnen zugeführten Trägerströme in dem Prozessraum zumindest in einem stromaufwärts innerhalb des Prozessraums gelegenen Untersuchungsbereich nebeneinander verlaufen, ohne sich dort nennenswert zu vermischen.

20

25

30

Beispielsweise können die beiden Trägerstromzuleitungen y-förmig in den gemeinsamen Prozessraum münden und dort zunächst nebeneinander verlaufen. Die erste Messstation ist dann in dem Untersuchungsbereich des Prozessraums im Bereich

des ersten Trägerstroms angeordnet, während die zweite Messstation in dem Untersuchungsbereich des Prozessraums im Bereich des zweiten Trägerstroms und bezüglich der Strömungsrichtung neben der ersten Messstation angeordnet ist.

5

Zur Vermeidung einer Mischung der beiden Trägerströme in dem stromaufwärts gelegenen Untersuchungsbereich des Prozessraums ist in einem bevorzugten Ausführungsbeispiel der Erfindung eine optionale Trennwand zwischen den beiden Trägerströmen vorgesehen, wobei die Trennwand für die Partikel undurchlässig ist. Vorzugsweise ist die Trennwand auch für die Trägerströme undurchlässig, jedoch ist es auch denkbar, dass die Trennwand nur für die Partikel undurchlässig ist, wohingegen die Trennwand für die Trägerströme durchlässig ist.

15

Auch ohne eine Trennwand in dem Prozessraum ist das erfindungsgemäße mikrofluidischen System vorzugsweise so ausgelegt, dass sich die einzelnen Trägerströme in dem Prozessraum nicht oder nur vernachlässigbar vermischen. Dies lässt sich durch eine laminare Strömung in dem Prozessraum erreichen.

20

Weiterhin ist in dem gemeinsamen Prozessraum vorzugsweise mindestens ein dielektrophoretischer Feldkäfig angeordnet, um die Partikel zu fixieren. Es besteht auch die Möglichkeit, in dem Prozessraum in jedem Trägerstrom jeweils einen Feldkäfig anzuordnen, was eine Parallelisierung ermöglicht. Es ist aber auch möglich, dass die bereits erwähnten Messstationen als Feldkäfig ausgebildet sind und mit ihnen auch eine Fixierung, Sortierung, etc. stattfinden kann.

25

30

Eine Fixierung der Partikel in dem Feldkäfig ist beispielsweise vorteilhaft, da die Partikel im fixierten Zustand besser untersucht werden können, wozu vorzugsweise eine dritte Messstation vorgesehen ist, welche die in dem Feldkäfig fi-

xierten Partikel untersucht. Der Aufbau und die Funktionsweise eines Feldkäfigs ist beispielsweise in der bereits eingangs erwähnten Veröffentlichung von MÜLLER, T. et al.: "A 3-D microelectrode system for handling and caging single cells and particles" beschrieben, so dass der Inhalt dieser Veröffentlichung der vorliegenden Beschreibung in vollem Umfang zuzurechnen ist. Der im Rahmen der Erfindung verwendete Begriff eines Feldkäfigs ist jedoch allgemein zu verstehen und nicht auf die bekannten konstruktiven Gestaltungen von Feldkäfigen beschränkt. Vielmehr umfasst der Begriff eines Feldkäfigs im Sinne der Erfindung alle dielektrophoretischen Halteelemente, wie beispielsweise auch einen sogenannten "Hook".

In einem bevorzugten Ausführungsbeispiel der Erfindung ist der Feldkäfig in dem Prozessraum bezüglich der Strömungsrichtung im Wesentlichen mittig zwischen den beiden Trägerströmen angeordnet. Ohne eine externe Ansteuerung strömen die in den beiden Trägerströmen suspendierten Partikel deshalb seitlich an dem Feldkäfig vorbei und werden von diesem nicht fixiert.

Zwischen den beiden Messstationen für die Untersuchung der verschiedenen Partikel und dem Feldkäfig ist deshalb vorzugsweise eine Selektionseinheit angeordnet, die bestimmte Partikel aus dem ersten Trägerstrom und/oder aus dem zweiten Trägerstrom selektiert und dem Feldkäfig zuführt, damit dieser die Partikel fixieren kann. Die Selektionseinheit weist vorzugsweise eine dielektrophoretische Elektrodenanordnung auf, wie sie in der bereits eingangs erwähnten Veröffentlichung von MÜLLER, T. et al.: "A 3-D microelectrode system for handling and caging single cells and particles" beschrieben ist und dort als "Funnel" bezeichnet wird. Die Erfindung ist jedoch hinsichtlich des Aufbaus der Selektionseinheit nicht auf dieses an sich bekannte Konstruktionsprinzip beschränkt.

Weiterhin ist zu erwähnen, dass die Selektionseinheit die in dem ersten Trägerstrom suspendierten Partikel und die in dem zweiten Trägerstrom suspendierten Partikel vorzugsweise unabhängig voneinander selektieren und dem Feldkäfig zuführen

5 kann. Hierbei kann die Selektionseinheit also wahlweise die in dem ersten Trägerstrom suspendierten Partikel oder die in dem zweiten Trägerstrom suspendierten Partikel selektieren und dem Feldkäfig zuführen. Die Auswahl der zu selektierenden Partikel kann hierbei in Abhängigkeit von dem Untersuchungsergebnis in den beiden Messstationen erfolgen. Beispielsweise kann ein in dem ersten Trägerstrom suspendierter Partikel selektiert und dem Feldkäfig zugeführt werden, wenn die vorangegangene Untersuchung in der ersten Messstation ein bestimmtes Untersuchungsergebnis erbracht hat. Entsprechend kann ein
10 in dem zweiten Trägerstrom suspendierter Partikel selektiert und dem Feldkäfig zugeführt werden, wenn die vorangegangene Untersuchung dieses Partikels in der zweiten Messstation ein bestimmtes Untersuchungsergebnis erbracht hat.

20 Es ist jedoch im Rahmen der Erfindung auch möglich, dass die in den beiden Trägerströmen suspendierten Partikel gemeinsam selektiert und zur Paarbildung in dem Feldkäfig zusammengeführt werden.

25 Ferner kann in einer oder mehreren Trägerstromzuleitungen, in dem Prozessraum und/oder in einer oder mehreren Trägerstromausgangsleitungen eine Zentriereinheit angeordnet sein, welche die in dem Trägerstrom suspendierten Partikel zentriert. Auf diese Weise wird vorteilhaft eine Partikelablagerung und
30 -anhaftung an der Innenwand der Trägerstromzuleitungen, des Prozessraums bzw. der Trägerstromausgangsleitung verhindert. Eine derartige Zentriereinheit weist vorzugsweise eine dielektrophoretische Elektrodenanordnung auf, wie sie beispielsweise in der bereits eingangs erwähnten Veröffentlichung von

MÜLLER, T. et al.: "A 3-D microelectrode system for handling and caging single cells and particles" beschrieben ist und dort als "Funnel" bezeichnet wird. Der Inhalt dieser Veröffentlichung ist deshalb der vorliegenden Beschreibung hinsichtlich der Gestaltung der Zentriereinheit zuzurechnen.

Darüber hinaus kann in einer oder mehreren Trägerstromzuleitungen, in dem Prozessraum oder in einer oder mehreren Ausgangsleitungen auch eine Halteeinheit angeordnet sein, welche die in dem Trägerstrom suspendierten Partikel vorübergehend festhält. Am Eingang des erfindungsgemäßen mikrofluidischen Systems kann eine derartige Halteeinheit dann stets einen bestimmten Vorrat an Partikeln bereithalten. Am Ausgang des mikrofluidischen System ermöglicht eine derartige Halteeinheit ebenfalls eine vorübergehende Fixierung der Partikel, was beispielsweise bei einem Batch-Betrieb sinnvoll sein kann, bei dem die gewünschten Partikel gesammelt und dann gemeinsam weiter transportiert werden. Vorzugsweise weist eine derartige Halteeinheit eine dielektrophoretische Elektrodenanordnung auf, die an sich bekannt ist und üblicherweise als "Hook" bezeichnet wird.

Weiterhin münden aus dem Prozessraum vorzugsweise mehrere Trägerstromausgangsleitungen aus, wobei die Partikel auf die verschiedenen Trägerstromausgangsleitungen sortiert werden können. Hierzu ist vorzugsweise eine Sortiereinheit vorgesehen, die vorzugsweise in dem stromabwärts gelegenen Bereich des Prozessraums angeordnet ist und die Sortierung auf die verschiedenen Trägerstromausgangsleitungen vornimmt. Die Sortiereinheit weist vorzugsweise eine dielektrophoretische Elektrodenanordnung auf, wie sie beispielsweise in der bereits eingangs erwähnten Veröffentlichung von MÜLLER, T. et al.: "A 3-D microelectrode system for handling and caging single cells and particles" beschrieben ist und dort als

"Switch" bezeichnet wird. Die Erfindung ist jedoch hinsichtlich des Aufbaus und der Funktionsweise der Sortiereinheit nicht auf dieses an sich bekannte Konstruktionsprinzip beschränkt.

5

Die Ansteuerung der Sortiereinheit zur Sortierung der Partikel auf die verschiedenen Trägerstromausgangsleitungen erfolgt vorzugsweise in Abhängigkeit von der Untersuchung der Partikel in dem Prozessraum. Hierbei kann die Sortierung ausschließlich in Abhängigkeit von der Untersuchung der in dem Feldkäfig fixierten Partikel erfolgen. Es ist jedoch auch möglich, dass die Sortierung nur in Abhängigkeit von der Untersuchung der Partikel in den getrennten Trägerströmen erfolgt. Darüber hinaus kann die Sortierung auch in Abhängigkeit von sämtlichen Untersuchungen erfolgen, die in dem Prozessraum durchgeführt werden.

Vorzugsweise mündet hierbei eine der Trägerstromausgangsleitungen in einer Strömungslinie hinter dem Feldkäfig aus dem Prozessraum aus, so dass die von dem Feldkäfig freigegebenen Partikel ohne eine aktive Ansteuerung der Sortiereinheit über diese Trägerstromausgangsleitung abgeführt werden. Die anderen Trägerstromausgangsleitungen münden dagegen vorzugsweise gegenüber der Strömungslinie hinter dem Feldkäfig seitlich versetzt aus dem Prozessraum aus, so dass eine aktive Ansteuerung der Sortiereinheit erforderlich ist, um die von dem Feldkäfig freigegebenen Partikel über diese seitlich versetzten Trägerstromausgangsleitung abzuführen.

Die in der Strömungslinie hinter dem Feldkäfig ausmündende Trägerstromausgangsleitung wird vorzugsweise zur Abführung solcher Partikel benutzt, die in den Trägerströmen häufig vorkommen, wohingegen die seitlich versetzten Trägerstromausgangsleitungen vorzugsweise zur Abführung von Partikeln be-

nutzt werden, die in den Trägerströmen seltener vorkommen. Dies ist vorteilhaft, da die Sortiereinheit auf diese Weise seltener aktiv angesteuert werden muss.

5 Ferner ist zu erwähnen, dass die Erfindung nicht nur das vorstehend beschriebene mikrofluidische System als Einzelteil, wie beispielsweise als Chip, umfasst, sondern auch einen Zellsortierer und einen Zellfusionierer mit einem derartigen mikrofluidischen System betrifft.

10

Hinsichtlich der Einzelheiten der Zellfusion wird zur Vermeidung von Wiederholungen auf die Patentanmeldung DE 198 59 459 A1 verwiesen, wobei der Inhalt dieser Patentanmeldung der vorliegenden Beschreibung hinsichtlich der Zellfusion zuzu-
15 rechnen ist.

In einer Variante der Erfindung erfolgt in dem erfindungsgemäßen mikrofluidischen System zuerst eine Zellfusion und anschließend eine Untersuchung des entstandenen Zellpaares. In
20 Abhängigkeit von dem Ergebnis dieser Untersuchung erfolgt dann eine Sortierung auf eine von mehreren Ausgangsleitungen.

Darüber hinaus umfasst die Erfindung auch ein entsprechendes Betriebsverfahren, das bereits vorstehend beschrieben wurde.

25

Weiterhin ist zu erwähnen, dass der im Rahmen der Erfindung verwendete Begriff eines Partikels allgemein zu verstehen ist und nicht auf einzelne biologische Zellen beschränkt ist. Vielmehr umfasst dieser Begriff auch synthetische oder biolo-
30 gische Partikel, wobei sich besondere Vorteile ergeben, wenn die Partikel biologische Materialien, also beispielsweise biologische Zellen, Zellgruppen, Zellbestandteile, Viren oder biologisch relevante Makromoleküle, jeweils ggf. im Verbund mit anderen biologischen Partikeln oder synthetischen Träger-

partikeln umfassen. Synthetische Partikel können feste Partikel, flüssige, vom Suspensionsmedium abgegrenzte Teilchen oder Mehrphasenpartikel umfassen, die gegenüber dem Suspensionsmedium in dem Trägerstrom eine getrennte Phase bilden.

5

Ferner ist der im Rahmen der Erfindung verwendete Begriff eines mikrofluidischen Systems allgemein zu verstehen und bedeutet vorzugsweise, dass die Abmessungen der Trägerstromzuleitungen, des Prozessraums und der Trägerstromausgangsleitungen so klein sind, dass der Trägerstrom laminar ist, ohne dass sich Wirbel bilden. Darüber hinaus ist zu erwähnen, dass die Breite der Trägerstromzuleitungen, des Prozessraums und der Trägerstromausgangsleitungen vorzugsweise im Bereich eines Mehrfachen (z.B. das 10- bis 400-fache) des Partikeldurchmessers liegen.

15

Vorzugsweise liegen die Abmessungen (Breite, Tiefe und/oder Durchmesser) der Trägerzuleitungen, des Prozessraums und/oder der Trägerstromausgangsleitungen im Bereich von 50 nm bis 2 mm, wobei beliebige Zwischenwerte und Teilbereiche innerhalb dieses Intervalls möglich sind.

20

In Strömungsrichtung weist der Prozessraum vorzugsweise eine Länge auf, die im Bereich von 100 nm bis 10 mm liegt, wobei beliebige Zwischenwerte und Teilbereiche innerhalb dieses Intervalls möglich sind.

25

Andere vorteilhafte Weiterbildungen der Erfindung sind in den Unteransprüchen gekennzeichnet oder werden nachstehend zusammen mit der Beschreibung der bevorzugten Ausführungsbeispiele der Erfindung anhand der Figuren näher erläutert. Es zeigen:

30

Figur 1 ein Ausführungsbeispiel eines erfindungsgemäßen mikrofluidischen System in einem Sortierchip eines Zellsortierers sowie

- 5 Figur 2 ein alternatives Ausführungsbeispiel eines erfindungsgemäßen mikrofluidischen Systems zur Zellfusion.

Bei dem Ausführungsbeispiel gemäß Figur 1 münden zwei Trägerstromzuleitungen 1, 2 in einen Prozessraum 3, wobei über die
10 beiden Trägerstromzuleitungen 1, 2 jeweils suspendierte Partikel 4, 5 zugeführt werden.

In den beiden Trägerstromzuleitungen 1, 2 ist jeweils eine trichterförmige Elektrodenanordnung 6, 7 angeordnet, um die
15 in den Trägerströmen der beiden Trägerstromzuleitungen 1, 2 suspendierten Partikel 4, 5 zu zentrieren. Der Aufbau und die Funktionsweise der Elektrodenanordnungen 6, 7 ist an sich bekannt und beispielsweise in der bereits eingangs erwähnten Veröffentlichung MÜLLER, T. et al.: "A 3-D microelectrode
20 system for handling and caging single cells and particles" beschrieben.

In dem Prozessraum 3 befindet sich optional in einem stromaufwärts gelegenen Untersuchungsbereich an der Mündungsstelle
25 der beiden Trägerstromzuleitungen 1, 2 eine Trennwand 8, so dass die in den Trägerströmen der beiden Trägerstromzuleitungen 1, 2 suspendierten Partikel 4, 5 in dem Prozessraum 3 zunächst parallel nebeneinander und getrennt voneinander geführt werden. Die Trennwand 8 ist deshalb für die beiden Trägerströme und für die darin suspendierten Partikel 4, 5 un-
30 durchlässig.

Im Bereich der Trennwand 8 befinden sich in dem Prozessraum 3 zwei Messstationen 9, 10, um die suspendierten Partikel 4, 5

während des Vorbeiströmens einer Voruntersuchung zu unterziehen. Die Voruntersuchung kann in herkömmlicher Weise erfolgen und beispielsweise eine Durchlichtmessung oder eine fluoreszenzoptische Untersuchung umfassen.

5

Stromabwärts hinter den beiden Messstationen 9, 10 befindet sich in dem Prozessraum 3 eine trichterförmige Elektrodenanordnung 11, welche die in den beiden Teilströmen beiderseits der Trennwand 8 suspendierten Partikel 4, 5 zentriert und einem dielektrophoretischen Feldkäfig 12 zuführt, der die Partikel 4, 5 für eine Untersuchung in einer weiteren Messstation 13 fixieren kann. Der Aufbau und die Funktionsweise der Elektrodenanordnung 11 ist ebenfalls an sich bekannt und in der bereits vorstehend erwähnten Veröffentlichung von MÜLLER, T. et al.: "A 3-D microelectrode system for handling and carrying single cells and particles" beschrieben. Die Elektrodenanordnung 11 weist jedoch in diesem Ausführungsbeispiel zwei Schenkel auf, die getrennt und unabhängig voneinander schaltbar sind.

20

Weiterhin ist zu erwähnen, dass die Untersuchung in der Messstation 13 ebenfalls in herkömmlicher Weise erfolgen kann und beispielsweise eine Durchlichtmessung, eine Fluoreszenzmessung, eine elektrische Messung (z.B. Impedanzmessung) oder eine Kombination mehrerer Messungen umfasst.

25

Die Fixierung der Partikel 4, 5 in dem Feldkäfig 12 ist vorteilhaft, da die Partikel 4, 5 im ruhenden Zustand genauer untersucht werden können.

30

Hinter jeder der beiden Messstationen 9, 10 und vor der Elektrodenanordnung 11 kann zusätzlich jeweils ein Retardierungselement (Halteelemente) angeordnet sein, wobei diese beiden Retardierungselemente in der Zeichnung nicht darge-

stellt sind. Die Elektrodenanordnung 11 würde hierbei nur angesteuert, wenn die beiden Retardierungselemente wirklich Partikel enthalten, wohingegen eine Ansteuerung der Elektrodenanordnung überflüssig ist, wenn sich in den Retardierungselementen keine Partikel befinden.

Wenn der Partikel 4 in der Messstation 9 positiv bewertet wird und von der Elektrodenanordnung 11 in den Feldkäfig 12 gelenkt wird, sind die Eintrittselektroden (oder besser gesagt die stromaufwärts gelegenen Elektroden) des Feldkäfigs 12 ausgeschaltet, und die stromabwärts gelegenen Elektroden angeschaltet. Der Partikel 4 wird so von den angeschalteten Elektroden an einer Bewegung mit der Strömung gehindert und praktisch gehalten. Erst wenn der weitere Partikel 5 nach einer positiven Bewertung in der Messstation 10 von der Elektrodenanordnung 11 in den Feldkäfig 12 abgelenkt wird, werden auch die stromaufwärts gelegenen Elektroden angeschaltet.

Alternativ besteht auch folgende Möglichkeit: Alle Elektroden des Feldkäfigs 12 sind angeschaltet und bilden für den Partikel 4 eine Barriere, die den Partikel 4 an einer Weiterbewegung hindert. Erst wenn der Partikel 5 auch in Richtung des Feldkäfigs 12 abgelenkt wurde, werden alle Elektroden kurz ausgeschaltet, so dass beide Partikel 4, 5 in den Feldkäfig gelangen können. Unmittelbar danach werden sie wieder angeschaltet.

Stromabwärts hinter dem dielektrophoretischen Feldkäfig 12 befindet sich eine weitere Elektrodenanordnung 14, welche die in dem Trägerstrom suspendierten Partikel 4, 5 nach der Freigabe durch den Feldkäfig 12 in Abhängigkeit von dem Ergebnis der Untersuchung in der Messstation 13 einer von drei Ausgangsleitungen 15, 16, 17 zuführt.

Die Ausgangsleitungen 15, 17 dienen zur Abführung der negativ selektierten Partikel 4, 5, während die Trägerstromausgangsleitung 16 der Weiterführung der positiv selektierten Partikel dient. Die Trägerstromausgangsleitung 16 mündet hierbei in der Strömungslinie hinter dem Feldkäfig 12 aus dem Prozessraum 3 aus, während die Ausgangsleitungen 15, 17 gegenüber der Strömungslinie hinter dem Feldkäfig 12 seitlich versetzt aus dem Prozessraum 3 ausmünden. Dies hat zur Folge, dass die von dem Feldkäfig 12 freigegebenen Partikel 4, 5 ohne eine äußere Krafteinwirkung in die Trägerstromausgangsleitung 16 gelangen. Die Elektrodenanordnung 14 muss also aktiv angesteuert werden, wenn die Partikel 4, 5 in die Ausgangsleitungen 15, 17 für die negativ selektierten Partikel 4, 5 befördert werden sollen, wohingegen keine Ansteuerung für die positiv selektierten Partikel 4, 5 erfolgt. Diese Anordnung eignet sich deshalb besonders bei solchen Untersuchungen, bei denen nur wenige der Partikel 4, 5 negativ selektiert werden.

Das in Figur 2 dargestellte Ausführungsbeispiel eines erfindungsgemäßen mikrofluidischen Systems stimmt weitgehend mit dem vorstehend beschriebenen Ausführungsbeispiel überein, so dass ergänzend auf die vorstehende Beschreibung verwiesen wird, wobei im Folgenden für entsprechende Bauteile dieselben Bezugszeichen verwendet werden.

Eine Besonderheit dieses Ausführungsbeispiels besteht darin, dass die Partikel 4, 5 in dem mikrofluidischen System effektiv zu Aggregaten, insbesondere zur Hybridpaaren, fusioniert werden können, wobei über die Trägerstromzuleitungen 1, 2 unterschiedliche Typen von Partikeln 4, 5 zugeführt werden.

Der Feldkäfig 12 ist deshalb in diesem Ausführungsbeispiel etwas anders gestaltet und vereinigt die Funktionen einer

Zentriereinheit (engl. "Funnel") und eines Feldkäfigs (engl. "Cage").

Weiterhin bestehen die (Multi-) Elektrodenanordnungen 6, 7 in
5 den beiden Trägerstromzuleitungen 1, 2 hierbei jeweils ggf.
aus mehreren trichterförmigen und mehreren hakenförmigen Elektroden,
die auf mindestens einer der Elektrodenebenen galvanisch miteinander
verbunden sein können und dann gemeinsam angesteuert werden. Dies bietet
den Vorteil, die Anzahl der elektrischen Zuleitungen reduzieren zu können
und sichert eine verbesserte Zentrierung und Vereinzelung der Partikel. Die
(Multi-) Elektrodenanordnungen 6, 7 sollten galvanisch höchstens in einer
Elektrodenebene verbunden sein, um sie in den beiden Trägerstromzuleitungen
1, 2 unabhängig schalten zu können.
15

Darüber ist in den beiden Trägerstromzuleitungen 1, 2 stromaufwärts
vor den (Multi-) Elektrodenanordnungen 6, 7 jeweils eine Halteeinheit
18, 19 angeordnet, die aus einer dielektrophoretischen Elektrodenanordnung
besteht. Die Halteeinheiten 18, 19 können die über die Trägerstromzuleitungen
1, 2 zugeführten Partikel 4, 5 zwischenspeichern, so dass am Eingang des
mikrofluidischen Systems stets eine ausreichende, aber nicht zu hohe Anzahl
der Partikel 4, 5 für eine Paarbildung zur Verfügung steht. Die Elektrodenanordnungen
der beiden Halteinheiten 18, 19 bestehen hierbei jeweils aus zwei Zick-Zack-
förmigen Elektroden, die in Strömungsrichtung hintereinander angeordnet
sind, wobei die beiden Zick-Zackförmigen Elektroden der Halteeinheiten 18, 19
galvanisch miteinander verbunden sein und gemeinsam angesteuert werden können.
20
25
30

Die Halteeinheit 18 und die Elektrodenanordnung 6 in der Trägerstromzuleitung 1
werden hierbei zeitlich koordiniert mit

der Halteeinheit 19 und der Elektrodenanordnung 7 in der Trägerstromzuleitung 2 angesteuert. Auf diese Weise wird sichergestellt, dass immer eine ausreichende Anzahl der Partikel 4, 5 beider Typen für die Paarbildung angesammelt wird. Darüber hinaus wird durch die zeitlich koordinierte Ansteuerung auch verhindert, dass sich die Partikel 4, 5 bei einer ungeeigneten Zellkonzentration zu stark verklumpen.

Durch die trichterförmigen (Multi-) Elektrodenanordnungen 6, 7 werden die Partikel 4, 5 von den Kanalrändern hin zur Kanalmitte geführt und zugleich auch in z-Ebene angehoben, was zu einem verbesserten Partikelfluss beiträgt und verhindert, dass sich Zellen oder Aggregate an der Glasoberfläche leicht anhaften und zu einem Partikelstau führen. Die (Multi-) Elektrodenanordnungen 6, 7 sind hierbei so angeordnet, dass beide Partikelströme sich nicht unkontrolliert vermischen. In den mehreren hakenförmigen Elektroden der (Multi-) Elektrodenanordnungen 6, 7 können einzelne Partikeln 4, 5 zwischengespeichert werden und kontrolliert in den Prozessraum 3 abgegeben werden. Dies kann bei gegebener Strömungsgeschwindigkeit durch kurzzeitiges Ab- bzw. Umschalten der Elektroden realisiert werden, so dass unter Freisetzung der am weitesten stromabwärts gefangenen Partikeln 4, 5 die anderen zwischengespeicherten Partikel 4, 5 jeweils eine Position stromabwärts wieder gespeichert werden. Erfolgt dies korreliert mit der im Prozessraum 3 erfolgten Manipulation und oder Detektion, so kann eine optimale Versorgung des Prozessraums 3 mit den Partikeln 4, 5 und damit ein hoher Durchsatz des Mikrosystems realisiert werden.

Ferner ist in der Trägerstromausgangsleitung 16 eine weitere Halteeinheit 20 angeordnet, die ebenfalls aus einer dielektrophoretischen Elektrodenanordnung besteht und ähnlich aufgebaut ist wie die Halteeinheiten 18, 19. Die Halteein-

heit 20 ermöglicht es, ein in dem Feldkäfig 12 gebildetes Zellpaar vor der Weitergabe in der Trägerstromausgangsleitung 16 festzuhalten. Dies ist insbesondere bei einem batchweisen Betrieb des Mikrosystems vorteilhaft.

5

Im Folgenden wird nun das weitere Betriebsverfahren in dem Prozessraum 3 des in Figur 2 dargestellten Mikrosystems beschrieben.

10 Passieren die Partikel 4, 5 der beiden Zelltypen unabhängig von einander die Messstationen 9, 10, werden bspw. ihre optischen Eigenschaften registriert (z.B. Größe, Fluoreszenz, Durchlichteigenschaft, Phasenkontrast, Einzeln/Aggregat, Abstand zur nächsten Zelle). Das Ein- bzw. Freischalten des
15 Feldkäfigs 12 wird über einen detektionsseitigen Trigger ausgelöst.

Erfüllt der jeweilige Partikel 4, 5 die ausgesuchten Zielkriterien nicht, werden die unabhängig zu schaltenden Schenkel
20 der trichterförmigen Elektrodenanordnung 11 ausgeschaltet und der negativ evaluierte Partikel 4, 5 gelangt nach Passieren der Elektrodenanordnung 14 in die Ausgangsleitungen 15, 17. Alternativ können anstelle der trichterförmigen Elektrodenanordnung 11 (engl. "Funnel") zwei sogenannte Fast-Switches
25 eingesetzt werden. Derartige Fast-Switches sind beispielsweise aus den Figur 2 und 3 der deutschen Patentanmeldung 10 2004 017 482 bekannt, deren Inhalt deshalb der vorliegenden Beschreibung in vollem Umfang zuzurechnen ist.

30 Die Besonderheit besteht bei derartigen Fast-Switches darin, dass die Elektrodenanordnung eine Pfeilelektrode aufweist, die entgegen der Strömungsrichtung ausgerichtet ist und permanent angesteuert wird, wobei an die Pfeilelektrode zwei Ablenkelektroden angrenzen, die zur Ablenkung in die gewünschte

Ausgangsleitung jeweils einzeln angesteuert werden. Diese Konfiguration wird als "Ultra Fast Sorter" (UFS) bezeichnet und ermöglicht eine schnelle Sortierung der suspendierten Partikel 2.

5

Ist einer der Partikel 4, 5 positiv evaluiert, werden die korrespondierenden Einzelschenkel der Elektrodenanordnung 11 eingeschaltet und der Partikel 4, 5 gelangt vor den Feldkäfig 12, welcher der Paarbildung dient. Dies kann anstelle des Feldkäfigs 12 ein sogenannter "Hook" sein oder ein sogenannter "Hohlkammerfunnel" (auch mit mehreren Taschen, hier nicht gezeigt). Dieser Prozess wird nach Freigabe des fehlenden Partikels 4 bzw. 5 aus der entsprechenden Trägerstromzuleitung 1 bzw. 2 wiederholt, bis zwei Partikel 4, 5 vor dem Feldkäfig 12 bereit stehen, die anschließend durch kurzes Um- bzw. Ein- und Ausschalten zumindest der stromaufwärtsliegenden Feldkäfigelektroden in dem Feldkäfig 12 als Paar gefangen werden. Hieran kann sich eine zusätzliche Manipulation anschließen. So können die Partikel 4, 5 bspw. hinreichend lange bzw. stark in dem Feldkäfig 12 dielektrisch aufeinander gepresst werden, so dass sie einen festen Verbund ausbilden können und/oder kurzen hohen elektrischen Gleichspannungspulsen ausgesetzt werden. Damit können z.B. biologische Zellen fusioniert werden. Die Verbundbildung kann auch optisch (z.B. photochemisch oder durch sogenannte Laserskalpelle) und oder thermisch (z.B. durch Anlegen einer erhöhten Käfigspannung) aktiviert werden.

Ist durch die z.B. optische Detektion sichergestellt, dass die Paarbildung erfolgte, kann das Zellpaar das System passieren und wird in der mittleren Trägerstromausgangsleitung 16 ausgespült, bzw. bei batchweisem Abarbeiten in der Halteinheit 20 zwischengespeichert.

Ansonsten wird durch die Sperrfunktion der pfeilförmigen Elektrodenanordnung 14 die mittlere Trägerstromausgangsleitung 16 dielektrisch verschlossen.

5 Anspruchsvoller ist es, wenn die beiden Partikel 4, 5 erst in dem Feldkäfig 12 gezielt vereint werden sollen. Damit ist es bspw. möglich, alle Paare einer Beschickung (engl. "batch") eine definierte Zeitspanne miteinander in Kontakt treten zu lassen, um etwa eine zuverlässige Aktivierung der einen Partikel-
10 tikelsorte zu realisieren. Zusätzlich ermöglicht diese Vorgehensweise bei mehr als zwei Trägerstromzuleitungen eine definierte Abfolge der Partikelaggregation. Zur Partikelvereinigung in dem Feldkäfig 12 ist es sinnvoll, nach dem Passieren der trichterförmigen Elektrodenanordnung 11 durch den positiv bewerteten Partikel 4, 5 den Partikel 4, 5 in dem eingeschalteten Feldkäfig 12 zu halten. Wenn der zweite Partikel 4, 5 vor den Feldkäfig 12 gelangt, werden die stromaufwärts liegenden Elektroden des Feldkäfigs 12 kurz um- bzw. aus- und dann wieder angeschaltet. Das Partikelpaar ist dann gefangen.
15 Alternativ ist es auch möglich zunächst nur den Feldkäfig 12 im Fangmodus zu betreiben. Hier sind die Strömungsabgewandten Elektrodenpaare angeschaltet, die in Strömung liegenden Bereich sind ausgeschaltet. Einer der Partikel 4, 5 wird im Käfigbereich gehalten. Erst wenn der zweite Partikel 4, 5 in
20 den Zentralbereich des Feldkäfigs 12 gelangt, wird auch die strömungszugewandte Seite über ein Triggersignal angeschaltet
25

Die Erfindung ist nicht auf das vorstehend beschriebene bevorzugte Ausführungsbeispiel beschränkt. Vielmehr ist eine
30 Vielzahl von Varianten und Abwandlungen möglich, die ebenfalls von dem Erfindungsgedanken Gebrauch machen und deshalb in den Schutzbereich fallen.

* * * * *

Bezugszeichenliste:

- 1 Trägerstromzuleitung
- 2 Trägerstromzuleitung
- 3 Prozessraum
- 4 Partikel
- 5 Partikel
- 6 Elektrodenanordnung
- 7 Elektrodenanordnung
- 8 Trennwand
- 9 Messstation
- 10 Messstation
- 11 Elektrodenanordnung
- 12 Feldekäfig
- 13 Messstation
- 14 Elektrodenanordnung
- 15 Trägerstromausgangsleitung
- 16 Trägerstromausgangsleitung
- 17 Trägerstromausgangsleitung
- 18 Halteeinheit
- 19 Halteeinheit
- 20 Halteeinheit

* * * *

ANSPRÜCHE

- 5 1. Mikrofluidisches System, insbesondere in einem Zellsortierer, mit
- einer ersten Trägerstromzuleitung (1) zur Zuführung eines ersten Trägerstroms mit darin suspendierten Partikeln (4),
 - einer ersten Trägerstromausgangsleitung (15) zum Abführen
 - 10 mindestens eines Teils des Trägerstroms mit den darin suspendierten Partikeln (4),
 - einem Prozessraum (3) zur Untersuchung, Beobachtung, Manipulation und/oder Selektion der Partikel (4), wobei die erste Trägerstromzuleitung (1) in den Prozessraum (3)
 - 15 einmündet, während die erste Trägerstromausgangsleitung (15) aus dem Prozessraum (3) ausmündet,

gekennzeichnet durch

- mindestens eine zweite Trägerstromzuleitung (2) zur Zuführung eines zweiten Trägerstroms mit darin suspendierten
- 20 Partikeln (5), wobei die zweite Trägerstromzuleitung (2) ebenfalls in den Prozessraum (3) einmündet.

2. Mikrofluidisches System nach Anspruch 1, **gekennzeichnet durch**

- 25 - eine erste Messstation (9) zur Untersuchung der in dem ersten Trägerstrom suspendierten Partikel (4) und
- eine zweite Messstation (10) zur Untersuchung der in dem zweiten Trägerstrom suspendierten Partikel (5).

- 30 3. Mikrofluidisches System nach Anspruch 1 oder 2, **dadurch gekennzeichnet, dass** der erste Trägerstrom und der zweite Trägerstrom in dem Prozessraum (3) zumindest in einem stromaufwärts gelegenen Untersuchungsbereich nebeneinander verlaufen.

4. Mikrofluidisches System nach Anspruch 2 und 3, **dadurch gekennzeichnet, dass** die erste Messstation (9) in dem Untersuchungsbereich des Prozessraums (3) im Bereich des ersten Trägerstroms angeordnet ist, während die zweite Messstation (10) in dem Untersuchungsbereich des Prozessraums (3) im Bereich des zweiten Trägerstroms und bezüglich der Strömungsrichtung neben der ersten Messstation (9) angeordnet sind.

5. Mikrofluidisches System nach Anspruch 3 oder 4, **dadurch gekennzeichnet, dass** in dem Untersuchungsbereich des Prozessraums (3) eine Trennwand (8) zwischen dem ersten Trägerstrom und dem zweiten Trägerstrom angeordnet ist, wobei die Trennwand (8) für die Partikel (4, 5) und/oder für die Trägerströme undurchlässig ist.

6. Mikrofluidisches System nach einem der Ansprüche 3 bis 5, **dadurch gekennzeichnet, dass** in dem Prozessraum (3) ein dielektrophoretischer Feldkäfig (12) angeordnet ist, um die Partikel (4, 5) zu fixieren.

7. Mikrofluidisches System nach Anspruch 6, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Feldkäfig (12) stromabwärts hinter der ersten Messstation (9) und der zweiten Messstation (10) angeordnet ist.

8. Mikrofluidisches System nach Anspruch 6 oder 7, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Feldkäfig (12) in dem Prozessraum (3) im Wesentlichen mittig zwischen den beiden Trägerströmen angeordnet ist.

9. Mikrofluidisches System nach einem der Ansprüche 6 bis 8, **dadurch gekennzeichnet, dass** in Strömungsrichtung zwischen den Messstationen (9, 10) und dem Feldkäfig (12) eine Selekt-

tionseinheit (11) angeordnet ist, die bestimmte Partikel (4, 5) aus dem ersten Trägerstrom und/oder aus dem zweiten Trägerstrom selektiert und dem Feldkäfig (12) zuführt.

5 10. Mikrofluidisches System nach einem der Ansprüche 6 bis 9, **gekennzeichnet durch** eine dritte Messstation (13) zur Untersuchung der in dem Feldkäfig (12) fixierten Partikel.

10 11. Mikrofluidisches System nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** in der ersten Trägerstromzuleitung (1) und/oder in der zweiten Trägerstromzuleitung (2) und/oder in dem Prozessraum (3) mindestens eine Zentriereinheit (6, 7) angeordnet ist, welche die Partikel (4, 5) zentriert.

15 12. Mikrofluidisches System nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** in der ersten Trägerstromzuleitung (1) und/oder in der zweiten Trägerstromzuleitung (2) und/oder in dem Prozessraum (3) mindestens eine Halteeinheit (18, 19) angeordnet ist, welche die Partikel (4, 5) festhält.

25 13. Mikrofluidisches System nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** aus dem Prozessraum (3) mindestens eine zweite Trägerstromausgangsleitung (16) ausmündet.

30 14. Mikrofluidisches System nach Anspruch 13, **dadurch gekennzeichnet, dass** im stromabwärts gelegenen Bereich des Prozessraums (3) eine Sortiereinheit (14) angeordnet ist, welche die Partikel (4, 5) auf die erste Trägerstromausgangsleitung (15) oder auf die zweite Trägerstromausgangsleitung (16) sortiert.

15. Mikrofluidisches System nach Anspruch 14, **dadurch gekennzeichnet, dass** die zweite Trägerstromausgangsleitung (16) in einer Strömungslinie hinter dem Feldkäfig (12) aus dem Prozessraum (3) ausmündet, während die zweite Trägerstromausgangsleitung (15) seitlich versetzt aus dem Prozessraum (3) ausmündet.

16. Mikrofluidisches System nach Anspruch 15, **dadurch gekennzeichnet, dass** aus dem Prozessraum (3) eine dritte Trägerstromausgangsleitung (17) ausmündet, wobei die dritte Trägerstromausgangsleitung (17) gegenüber der Strömungslinie hinter dem Feldkäfig (12) seitlich versetzt aus dem Prozessraum (3) ausmündet.

17. Mikrofluidisches System nach einem der Ansprüche 9 bis 16, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Zentriereinheit (6, 7), die Sortiereinheit (14), die Selektionseinheit (11) und/oder die Halteeinheit eine dielektrophoretische Elektrodenanordnung aufweist.

18. Mikrofluidisches System nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** in mindestens einer der Trägerstromausgangsleitungen (15, 16, 17) eine Halteeinheit (20) angeordnet ist, um die Partikel (4, 5) in der Ausgangsleitung (16) zwischenzuspeichern.

19. Zellfusionierer mit einem mikrofluidischen System nach einem der vorhergehenden Ansprüche.

20. Zellsortierer mit einem mikrofluidischen System nach einem der vorhergehenden Ansprüche.

21. Betriebsverfahren für ein mikrofluidisches System, insbesondere nach einem der Ansprüche 1 bis 18, mit den folgenden Schritten:

- Zuführung eines ersten Trägerstroms mit darin suspendierten Partikeln (4) durch eine erste Trägerstromzuleitung (1) in einen Prozessraum (3) des mikrofluidischen Systems,
- Untersuchung, Beobachtung, Manipulation und/oder Selektion der Partikel (4) in dem Prozessraum (3),
- Abführen mindestens eines Teiles des ersten Trägerstroms mit den darin suspendierten Partikeln (4) durch eine erste Trägerstromausgangsleitung (15),

gekennzeichnet durch folgenden Schritt:

- Zuführung mindestens eines zweiten Trägerstroms mit darin suspendierten Partikeln (5) durch eine zweite Trägerstromzuleitung (2) in den Prozessraum (3).

22. Betriebsverfahren nach Anspruch 21, **gekennzeichnet durch** folgende Schritte:

- Untersuchung der in dem ersten Trägerstrom suspendierten Partikel (4) und
- Untersuchung der in dem zweiten Trägerstrom suspendierten Partikel (5).

23. Betriebsverfahren nach Anspruch 22, **gekennzeichnet durch** folgenden Schritt:

- Selektion der in dem ersten Trägerstrom suspendierten Partikel (4) oder der in dem zweiten Trägerstrom suspendierten Partikel (5) in Abhängigkeit von der Untersuchung der in dem ersten Trägerstrom suspendierten Partikel (4) und/oder in Abhängigkeit von der Untersuchung der in dem zweiten Trägerstroms suspendierten Partikel (5).

24. Betriebsverfahren nach Anspruch 23, **gekennzeichnet durch** folgenden Schritt:

- Fixierung der selektierten Partikel (4, 5) in einem dielektrophoretischen Feldkäfig (12).

25. Betriebsverfahren nach Anspruch 24, **gekennzeichnet**

5 **durch** folgenden Schritt:

- Untersuchung der in dem Feldkäfig (12) fixierten Partikel (4, 5).

26. Betriebsverfahren nach einem der Ansprüche 21 bis 25,

10 **gekennzeichnet durch** folgenden Schritt:

- Sortierung der Partikel (4, 5) auf eine von mehreren Trägerstromausgangsleitungen (15, 16, 17).

27. Betriebsverfahren nach Anspruch 26, **dadurch gekenn-**

15 **zeichnet, dass** die Sortierung in Abhängigkeit von der Untersuchung der in dem Feldkäfig (12) fixierten Partikel (4, 5) erfolgt.

28. Betriebsverfahren nach einem der Ansprüche 21 bis 27,

20 **dadurch gekennzeichnet, dass** die Untersuchung der in dem ersten Trägerstrom suspendierten Partikel (4) und/oder die Untersuchung der in dem zweiten Trägerstrom suspendierten Partikel (5) und/oder die Untersuchung der in dem Feldkäfig (12) fixierten Partikel (4, 5) eine Durchlichtmessung und/oder eine Fluoreszenzmessung umfasst.

29. Betriebsverfahren nach einem der Ansprüche 21 bis 28,

30 **dadurch gekennzeichnet, dass** die in der ersten Trägerstromzuleitung angeordnete Zentriereinheit und/oder Halteeinheit einerseits und die in der zweiten Trägerstromzuleitung angeordnete Zentriereinheit und/oder Halteeinheit andererseits zeitlich koordiniert angesteuert werden.

* * * * *

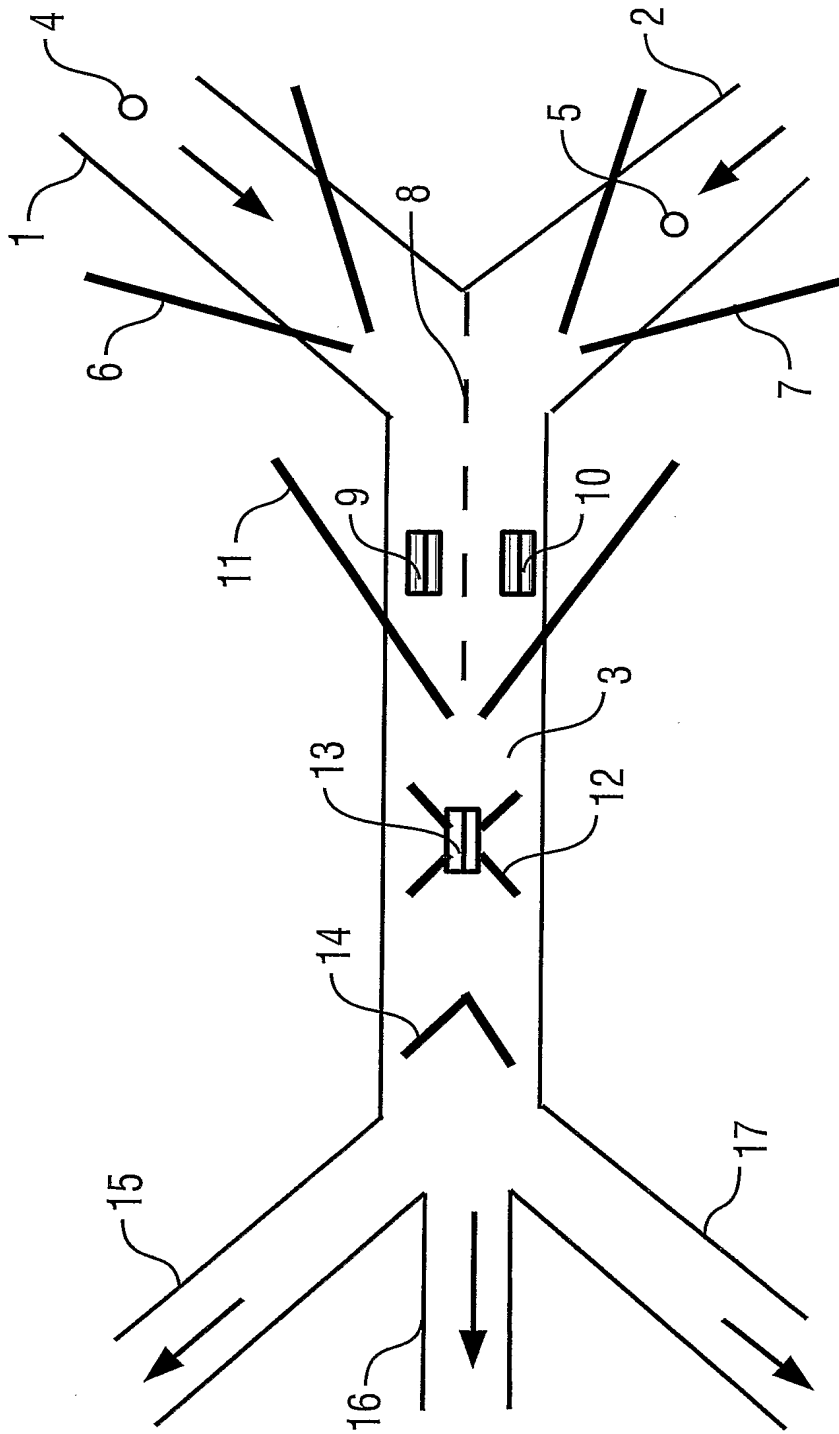


FIG 1

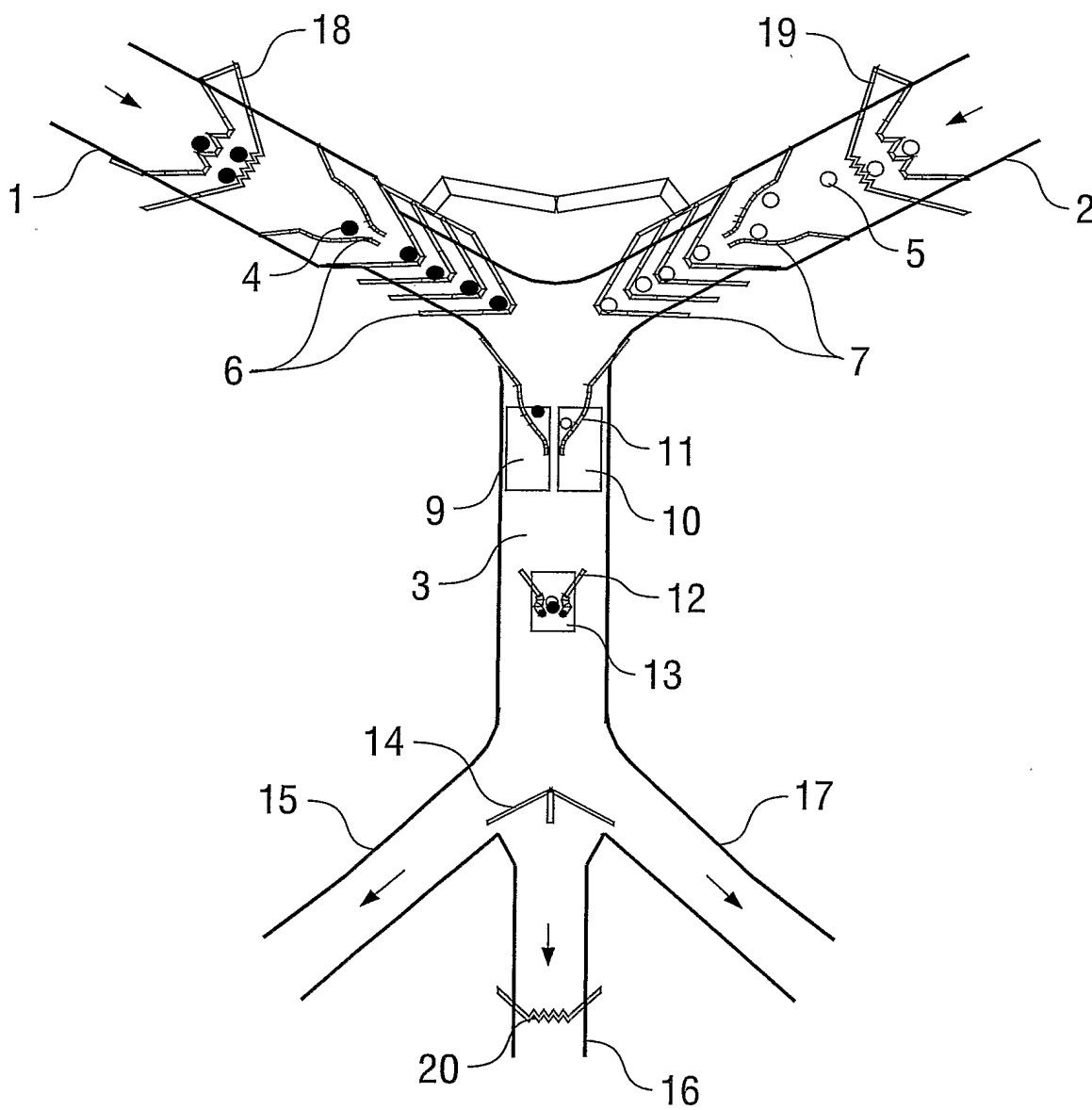


FIG 2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP2005/001085

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 G01N15/14 G01N15/12
 //B01L3/00, G01N27/44

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 G01N B01L C12M

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 03/066191 A (COLORADO SCHOOL OF MINES) 14 August 2003 (2003-08-14)	1,3,5, 13,14, 17,20, 21,23, 26,28
Y	page 1, line 29 - page 1, line 33 page 3, line 3 - page 3, line 19 page 6, line 30 - page 8, line 7 page 9, line 1 - page 9, line 14 page 13, line 10 - page 13, line 27 page 14, line 19 - page 15, line 4 page 17, line 20 - page 19, line 23 figure 16 ----- -/--	6,9,17, 19,27

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

12 May 2005

Date of mailing of the international search report

02/06/2005

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Koch, A

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP2005/001085

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 03/078972 A (MICRONICS, INC; WEIGL, BERNHARD, H; BARDELL, RONALD, L; HAYENGA, JON,) 25 September 2003 (2003-09-25) page 3, line 27 - page 4, line 11 page 7, line 30 - page 11, line 8 figure 2	1, 20
Y	----- MUELLER T ET AL: "3-D MICROELECTRODE SYSTEM FOR HANDLING AND CAGING SINGLE CELLS AND PARTICLES" BIOSSENSORS & BIOELECTRONICS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, BARKING, GB, vol. 14, 15 March 1999 (1999-03-15), pages 247-256, XP000912020 ISSN: 0956-5663 abstract paragraph '04.3! - paragraph '04.4! paragraph '04.4! figures 4,7	6, 9, 17, 27
Y	----- US 5 589 047 A (COSTER ET AL) 31 December 1996 (1996-12-31) column 12, line 60 - column 13, line 43 figure 28	19
A	----- US 2002/182627 A1 (XU JUN QUAN ET AL) 5 December 2002 (2002-12-05) page 1, paragraph 19 page 2, paragraph 26 page 2, paragraph 35 - page 3, line 4 page 3, paragraph 51 - page 4, paragraph 52 page 4, paragraph 61 - page 5, paragraph 62 page 5, paragraph 68 - page 7, paragraph 82 page 10, paragraph 117 - page 10, paragraph 118 page 38, paragraph 376 - page 38, paragraph 377 page 41, paragraph 408 - page 42, paragraph 413 page 43, paragraph 426 figures 4, 6, 12, 17, 18, 21	1, 19-21

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP2005/001085

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 03066191	A	14-08-2003	AU 2003216175 A1 WO 03066191 A1 US 2003159999 A1	02-09-2003 14-08-2003 28-08-2003
WO 03078972	A	25-09-2003	AU 2003220121 A1 EP 1487581 A1 EP 1483564 A1 WO 03078972 A1 WO 03078065 A1 US 2003175990 A1 US 2003175980 A1	29-09-2003 22-12-2004 08-12-2004 25-09-2003 25-09-2003 18-09-2003 18-09-2003
US 5589047	A	31-12-1996	AT 216426 T AU 661037 B2 AU 2562092 A WO 9305166 A1 BR 9206463 A CA 2117070 A1 DE 69232560 D1 DE 69232560 T2 EP 0607178 A1 JP 6510193 T MX 9205086 A1 NZ 244216 A	15-05-2002 13-07-1995 05-04-1993 18-03-1993 12-12-1995 18-03-1993 23-05-2002 16-01-2003 27-07-1994 17-11-1994 01-05-1993 27-06-1994
US 2002182627	A1	05-12-2002	US 2005058990 A1 CA 2441366 A1 EP 1372828 A2 WO 02077259 A2	17-03-2005 03-10-2002 02-01-2004 03-10-2002

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2005/001085

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 G01N15/14 G01N15/12
//B01L3/00, G01N27/44

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 G01N B01L C12M

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 03/066191 A (COLORADO SCHOOL OF MINES) 14. August 2003 (2003-08-14)	1,3,5, 13,14, 17,20, 21,23, 26,28 6,9,17, 19,27
Y	Seite 1, Zeile 29 - Seite 1, Zeile 33 Seite 3, Zeile 3 - Seite 3, Zeile 19 Seite 6, Zeile 30 - Seite 8, Zeile 7 Seite 9, Zeile 1 - Seite 9, Zeile 14 Seite 13, Zeile 10 - Seite 13, Zeile 27 Seite 14, Zeile 19 - Seite 15, Zeile 4 Seite 17, Zeile 20 - Seite 19, Zeile 23 Abbildung 16 ----- -/--	



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

° Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

E älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

G Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

12. Mai 2005

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

02/06/2005

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Koch, A

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 03/078972 A (MICRONICS, INC; WEIGL, BERNHARD, H; BARDELL, RONALD, L; HAYENGA, JON,) 25. September 2003 (2003-09-25) Seite 3, Zeile 27 - Seite 4, Zeile 11 Seite 7, Zeile 30 - Seite 11, Zeile 8 Abbildung 2	1,20
Y	----- MUELLER T ET AL: "3-D MICROELECTRODE SYSTEM FOR HANDLING AND CAGING SINGLE CELLS AND PARTICLES" BIOSENSORS & BIOELECTRONICS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, BARKING, GB, Bd. 14, 15. März 1999 (1999-03-15), Seiten 247-256, XP000912020 ISSN: 0956-5663 Zusammenfassung Absatz '04.3! - Absatz '04.4! Absatz '04.4! Abbildungen 4,7	6,9,17,27
Y	----- US 5 589 047 A (COSTER ET AL) 31. Dezember 1996 (1996-12-31) Spalte 12, Zeile 60 - Spalte 13, Zeile 43 Abbildung 28	19
A	----- US 2002/182627 A1 (XU JUN QUAN ET AL) 5. Dezember 2002 (2002-12-05) Seite 1, Absatz 19 Seite 2, Absatz 26 Seite 2, Absatz 35 - Seite 3, Zeile 4 Seite 3, Absatz 51 - Seite 4, Absatz 52 Seite 4, Absatz 61 - Seite 5, Absatz 62 Seite 5, Absatz 68 - Seite 7, Absatz 82 Seite 10, Absatz 117 - Seite 10, Absatz 118 Seite 38, Absatz 376 - Seite 38, Absatz 377 Seite 41, Absatz 408 - Seite 42, Absatz 413 Seite 43, Absatz 426 Abbildungen 4,6,12,17,1821	1,19-21

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2005/001085

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO 03066191	A	14-08-2003	AU	2003216175 A1	02-09-2003
			WO	03066191 A1	14-08-2003
			US	2003159999 A1	28-08-2003
WO 03078972	A	25-09-2003	AU	2003220121 A1	29-09-2003
			EP	1487581 A1	22-12-2004
			EP	1483564 A1	08-12-2004
			WO	03078972 A1	25-09-2003
			WO	03078065 A1	25-09-2003
			US	2003175990 A1	18-09-2003
			US	2003175980 A1	18-09-2003
US 5589047	A	31-12-1996	AT	216426 T	15-05-2002
			AU	661037 B2	13-07-1995
			AU	2562092 A	05-04-1993
			WO	9305166 A1	18-03-1993
			BR	9206463 A	12-12-1995
			CA	2117070 A1	18-03-1993
			DE	69232560 D1	23-05-2002
			DE	69232560 T2	16-01-2003
			EP	0607178 A1	27-07-1994
			JP	6510193 T	17-11-1994
			MX	9205086 A1	01-05-1993
			NZ	244216 A	27-06-1994
US 2002182627	A1	05-12-2002	US	2005058990 A1	17-03-2005
			CA	2441366 A1	03-10-2002
			EP	1372828 A2	02-01-2004
			WO	02077259 A2	03-10-2002